

PTO 2001-2138

CY=JP DATE=19770711 KIND=A1
PN=52082774

METHOD OF DECOMPOSITION OF POLYESTER COMPOUNDS
[Poriesuteru Kagobutsu no Bunkaiho]

Yutaka Tokiwa, et al.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
Washington, D.C. April 2001

Translated by: Diplomatic Language Services, Inc.

PUBLICATION COUNTRY	(19) : JP
DOCUMENT NUMBER	(11) : 52082774
DOCUMENT KIND	(12) : A1 (13) :
PUBLICATION DATE	(43) : 19770711
PUBLICATION DATE	(45) :
APPLICATION NUMBER	(21) : 50159531
APPLICATION DATE	(22) : 19751226
ADDITION TO	(61) :
INTERNATIONAL CLASSIFICATION	(51) : B29C 29/00; C12K 1/00; C07C 31/20; C12B 1/00
DOMESTIC CLASSIFICATION	(52) : 36(2)A5; 36(2)B02; 13(7)A31; 25(5) N3; 16B422
PRIORITY COUNTRY	(33) :
PRIORITY NUMBER	(31) :
PRIORITY DATE	(32) :
INVENTOR	(72) : TOKIWA, YUTAKA; SUZUKI, TOMOO; TAKAHARA, YOSHIMASA
APPLICANT	(71) : DIRECTOR-GENERAL, AGENCY OF INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY
TITLE	(54) : METHOD OF DECOMPOSITION OF POLYESTER COMPOUNDS
FOREIGN TITLE	[54A] : PORIESUTERU KAGOBUTSU NO BUNKAIHO

SPECIFICATION

1. Title of the Invention

Method of Decomposition of Polyester Compounds

2. Claims

A method of decomposition of polyester compounds, comprising contacting a lipase, lipase-containing substance or lipase-producing microbe to a polyester compound under conditions of 5-85°C temperature and pH 3-11.

3. Detailed Explanation of the Invention

The present invention relates to a method of biochemically decomposing polyester compounds using lipases.

More specifically, the present invention relates to a method of biochemically decomposing polyester resins, which occupy a large portion of plastic waste, using lipases, to render the polyester resin waste harmless.

Recently, development of treatment technologies for prevention of pollution pursuant to the increase of plastic waste is being hastened. Among plastic waste materials, there are resins of various compositions, and their treatments also are various, but the most simple method is to completely incinerate them. However, having easily incinerated them, it continues to be a problem in that it causes secondary pollution due to smoke and ash.

If plastic waste is biochemically decomposed in the soil or at a treatment plant in the same manner as paper, there is no problem if the plastic waste itself is caused to decompose by being buried in the soil, but it is not completely decomposed in the soil, and it remains intact.

Therefore, development of methods that can decompose even plastic waste by simple biochemical treatment is being hastened.

The present inventors previously established a method of decomposition of fatty polyester compounds using fungal bodies or cultures of filiform fungi of the *Penicillium* genus that can live on fatty polyester compounds as simple carbon sources.

Furthermore, the present inventors continued searches on many microbes and many enzymes across a wide range in order to make an invention concerning substances that decompose polyesters, upon which it was unexpectedly learned that lipase itself has the capability of decomposing polyester compounds.

The present invention was completed based on this new knowledge, and it is a method that decomposes polyester compounds by contacting a lipase, lipase-containing substance or lipase-producing microbe to a polyester compound under conditions of 5-85°C temperature and pH 3-11.

The main feature of the present invention is in the point that all lipase sources such as lipases, lipase-containing substances, and lipase-producing microbes decompose polyester compounds. Here, lipase includes not only lipases of enzyme classification, but all lipases such as esterase which hydrolyzes ester bonds, phospholipase, and lysophospholipase.

As sources of these lipases, there can be mentioned lipases such as of *Pseudomonas mephitica ribolytica*, deposited under Fermentation Research Institute No. 520 (FERM-P No. 520), and *Achromobacter iofagasu* [transliteration], being bacteria, *Candida paralipolytica* and *Candida cylindracea*, being yeasts, lipase-producing *Mucor*, *Aspergillus*, and

Rhizopus, being fungi, seed of Ricinus communis (castor bean), being a plant, and swine pancreas, swine liver, and snake venom, being of animals, and with the exception of lipase produced by Pseudomonas mephitica lipolytica, all are sold on the market. Also, [the invention] is not limited to these sources of lipases.

For decomposition of polyester compounds in the present invention, lipase, crude lipase, lipase-containing substances, and cultures of lipase-producing microbes containing lipase go without saying, and lipase-producing microbes, lipase-producing microbial colonies, activated sewage sludge with high lipase activity, and soil containing microbes having high lipase production, and the like, can be used effectively.

When lipase-producing microbes, and the like, are used, the addition of a nutritional source is effective for increasing the lipase activity. As nutritional sources, for example, in addition to inorganic salts, carbon sources such as glucose and starch, and organic nitrogen sources such as polypeptone and konsuteiburika [transliteration], there can be mentioned excrement, excrement of domesticated animals, agricultural waste, high-BOD waste liquids such as food industry wastewater, and urban refuse, and the like.

In order for lipase to decompose a polyester compound, it is desirable that the polyester compound be dispersed as finely as possible to increase the surface of contact with the lipase, and as such manners of dispersion, there are the thin fibrous manner, the thin filmy manner, and the powdery manner, and the like. If the reaction system is liquid, it is also possible to suspend the polyester compound in water after

having dissolved it in an organic solvent, or heating the polyester compound to the melting point or higher and dispersing it in a suspended state using a surfactant (for example Plysurf A210G). Also, those which are very difficult to disperse also can be coated with a small carrier (for example such as sea sand and glass beads).

The temperature when decomposing a polyester compound using lipase must be kept at 5-85°C, preferably 20-60°C, and the pH at 3-11, preferably 5-8. The decomposition reaction progresses both in a solution system and a solid system if there is suitable moisture. Ventilation of the reaction system is not necessary only in the case of the lipase enzyme itself, but when living microbes or cells are included, the reaction is accelerated when doing such.

As polyester compounds that can be decomposed by lipase, there are (1) fatty polyester compounds, (2) polyester compounds containing aromatic nuclei, (3) polyester compounds containing fatty rings, (4) polyesters containing hetero atoms other than oxygen, (5) copolymer polyester compounds having added third ingredients to various polyester compounds, (6) polyester carbonate compounds, and blends of one or more of (1)-(6) with other polymers or additives or both, and the like.

Next, a detailed explanation of the present invention is given using working examples, and the following methods of examination and quantification of the decomposition of polyester compounds in the working examples were used.

(Examination of Decomposition of Polyester Compound)

The clear zone method used from the past was followed. That is, it is a method in which 0.5% of various polyester compounds was suspended

to a milky-white condition in 0.02M phosphoric acid buffer using the surfactant Plysurf A210G, then 1.5% refined agar was added, and then it was sterilized and poured to a fixed thickness in a Petri dish. Also, a penicillin cap was placed on top of the hardened agar, 0.2ml of various enzyme solutions was added into that, the temperature was kept at 30°C for 1-2 days, and the extent of decomposition was examined according to the presence or absence of transparent [illegible] formation.

(Quantification Method)

◎ Total quantity of water-soluble organic carbon: The culture solution was filtered with a millipore filter with 0.22 μ hole size, then it was measured using a Toshiba-Beckman Type 915 total organic carbon quantity analyzer.

◎ Ethylene glycol: It was measured by the Hanahan method.

Working Example 1

A solution (5mg/ml) of lipase produced by *Pseudomonas mephitica* lipolytica FERM-P No. 520 (crude enzyme sample), a solution (5mg/ml) of lipase produced by a near relative of *Achromobacter iofagasu* transliteration] (manufactured by Meito Sangyo, crude enzyme sample (market product)), a solution (5mg/ml) of lipase produced by *Candida paralipolytica* (manufactured by Meito Sangyo, crude enzyme sample (market product)), a solution (1mg/ml) of lipase produced by *Candida cylindracea* (manufactured by Meito Sangyo, crude enzyme sample (market product)), a solution (5mg/ml) of lipase produced by a *Mucor* species (manufactured by Amano Seiyaku, crude enzyme sample (market product)), a solution (5mg/ml) of lipase produced by an *Aspergillus* species

(manufactured by Amano Seiyaku, crude enzyme sample (market product)), a solution (5mg/ml) of lipase produced by a *Rhizopus* species (manufactured by Nagase Sangyo, crude enzyme sample (market product)), a solution (1mg/ml) of lipase produced by *Rhizopus delemar* (manufactured by Seikagaku Kogyo, ultra-centrifuged sample (market product)), a solution (1mg/ml) of lipase produced by *Rhizopus arrhizus* (manufactured by Behringer Mannheim Yamanouchi, partially refined sample (market product)), a solution of lipase from seed of *Ricinus communis* (castor bean) (prepared by method of Ory, et al., crude enzyme sample), a solution (5mg/ml) of lipase from swine pancreas (manufactured by Tokyo Kasei Kogyo, crude enzyme sample (market product)), and a solution (1mg/ml) of esterase from swine liver (manufactured by Behringer Mannheim Yamanouchi, partially refined sample (market product)) were prepared.

Meanwhile, 0.5% each of polyethylene adipate, polyethylene phthalate, and polyethylene terephthalate were suspended to a milky-white condition in 0.02M phosphoric acid buffer solution using the surfactant Plysurf A210G, then 1.5% refined agar was added, and then it was sterilized and poured to a fixed thickness in a Petri dish. Also, a penicillin cap was placed on top of the hardened agar, 0.2ml of each of the aforementioned enzyme solutions was added into that, the temperature was kept at 30°C for 1-2 days, and the extent of decomposition was examined according to the presence or absence of transparent [illegible] formation.

The results are shown in the following Table 1.

TABLE 1

Enzyme Source	Capability of Decomposing Polyester Compound		
	Polyester Adipate pH 5.6 pH 7.0	Polyester Phthalate pH 7.0	Polyester Terephthalate pH 7.0
<i>Pseudomonas mephitica</i> <i>lipolytica</i> FERM-P No. 520 Lipase	++ ++	++	N.T.
<i>Achromobacter [iofagasu]</i> Lipase	++ ++	++	N.T.
<i>Candida paralipolytica</i> Lipase	+ +	±	N.T.
<i>Candida cylindracea</i> Lipase	+ +	+	+
<i>Mucor</i> spp. Lipase	+ +	+	+
<i>Aspergillus</i> spp. Lipase	± -	++	-
<i>Rhizopus</i> spp. Lipase	+ ++	+	-
<i>Rhizopus delemar</i> Lipase	+ ++	++	++
<i>Rhizopus arrhizus</i> Lipase	+ ++	++	++
<i>Ricinus communis</i> Lipase	- -	+	+
Swine Pancreas Lipase	± ±	±	±
Swine Liver Lipase	- -	++	±

-: decomposition not recognized
+: decomposition recognized
+: strong decomposition recognized
N.T.: not tested

From Table 1, it is clear that the lipases decompose the polyester compounds.

Working Example 2

Decomposition of the thermoplastic resin polycaprolactone was performed using the enzyme solutions in Table 2.

The reaction ingredients were a total of 35ml with 1g powdered polycaprolactone, 10ml 0.2M phosphoric acid buffer solution, and 0.5-3.2mg of each enzyme sample. These were reacted while shaking at 30°C for 16 hours, and the capability of decomposition was examined according to the total quantity of water-soluble organic carbon produced.

The results are shown in Table 2, and strong polycaprolactone-decomposing capability was recognized in the lipase of *Rhizopus delemar* and the lipase of *Rhizopus arrhizus*.

TABLE 2

Enzyme Source	Enzyme Quantity	Reaction pH	Total Organic Carbon Content Produced
<i>Aspergillus niger</i> Lipase	1.0mg	5.6	31ppm
<i>Geotrichum candidum</i> Lipase	1.0mg	5.6	8 "
<i>Rhizopus delemar</i> Lipase	1.0mg	5.6	177 "
<i>Rhizopus arrhizus</i> Lipase	0.5mg	7.0	95 "
<i>Candidum cylindracea</i> Lipase	1.0mg	7.0	22 "
Wheat Germ Lipase	3.2mg	5.6	5 "
Swine Pancreas Lipase	1.0mg	7.0	11 "

Working Example 3

Polyethylene adipate was decomposed using lipase produced by *Rhizopus delemar* (manufactured by Seikagaku Kogyo: commercial product).

The reaction ingredients consisted of 7.5ml 1% polyethylene adipate suspension, 2.0ml 0.2M phosphoric acid buffer solution, and 0.5ml lipase solution (1mg/ml), and a shaking reaction was performed at 30°C. A heat-treated lipase solution was used for the control.

The result of having measured the turbidity of the reaction solution over time, as shown in the attached Figure 1, was that a sudden reduction was recognized at the start of the reaction, and it became substantially transparent (turbidity was reduced to 1/300 or less) after 3 hours.

Working Example 4

Polycaprolactone (PCL-500 manufactured by Union Carbide) was formed into test pieces of 20cm vertically, 2cm horizontally, and 2mm thick, a field with high lipase activity was selected as the lipase source, 6 test pieces were buried in this at a depth of 5-10cm, and the reduction of weight was measured. As controls, test pieces wrapped in aluminum foil and buried in soil (Control (1)), those exposed to the atmosphere (Control (2)), those placed in a desiccator (Control (3)), and a field with low lipase activity (Control (4)) were used.

The results are shown in Table 3, and it was understood that the test pieces were significantly decomposed compared with all of the controls.

TABLE 3

	Weight Reduction			
	1 Month	2 Months	3 Months	5 Months
Test Piece (Average)	302.3mg	873.4mg	1482.7mg	3262.8mg
Control (1)	-1.4mg	9.8mg	24.8mg	34.2mg
Control (2)	31.9mg	74.4mg	111.3mg	132.7mg
Control (3)	32.7mg	31.0mg	38.7mg	41.8mg
Control (4)	32.5mg	50.2mg	76.4mg	98.3mg

Working Example 5

Activated sewage sludge with increased lipase activity was prepared, this was thrown into an air seasoning tank with MLSS (floating substance in mixed solution) kept at 4000-6000ppm, 6 test pieces (20cm vertically, 2cm horizontally, 2mm thick) of polycaprolactone (manufactured by Union Carbide: PCL-500) fixed to stainless steel cages were put in, and the weight reduction was measured at room temperature.

The results are shown in Table 4, and it was understood that the test pieces were significantly decomposed in the activated sewage sludge with increased lipase activity compared to ordinary activated sewage sludge.

TABLE 4

	Weight Reduction (mg)		
	1 Month	2 Months	After 3 Months
Activated Sewage Sludge with Increased Lipase Activity	578.2	1393.4	2047.5
Ordinary Activated Sewage Sludge	134.5	387.0	412.1

Working Example 6

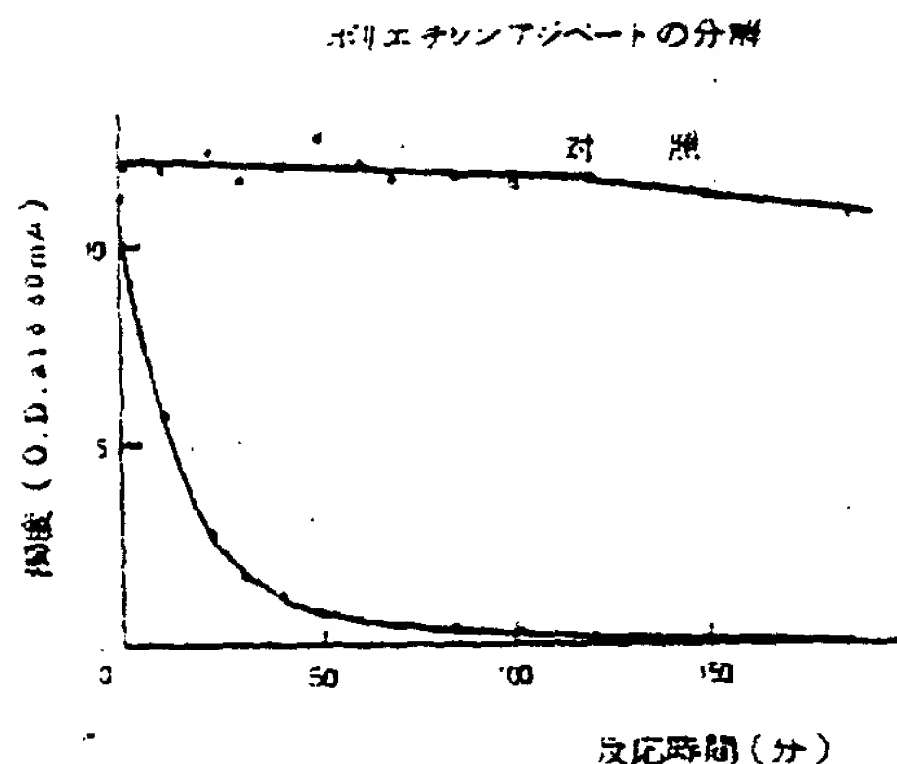
A film having blended polycaprolactone and polyvinyl acetate was created, it was buried in a field with high lipase activity being selected as the lipase source, and the weight reduction of the film was measured.

The control was one wrapped in aluminum foil and buried in soil. As a result, compared with the control in which there was no weight reduction recognized at all in a three-hour test, the test film had a weight reduction of 6% in the first month, the film was decomposed in the third month, and measurement of the weight was difficult.

Thus, it is clear that lipase has the capability of decomposing plastic having blended a polyester composition with another polymer.

4. Brief Explanation of the Drawing

The figure is a drawing showing the decomposition of polyethylene adipate using a lipase produced by *Rhizopus delemar*.



Figure

[upper horizontal:] Decomposition of Polyethylene Adipate
[upper curve:] Control
[lower horizontal:] Reaction Time (minutes)
[vertical:] Turbidity (O.D. at 660 μ m)

⑨日本国特許庁

⑩特許出願公開

公開特許公報

昭52—82774

⑤Int. Cl ² .	識別記号	⑥日本分類	庁内整理番号	④公開 昭和52年(1977)7月11日
B 29 C 29/00	1 0 2	36(2) A 5	7235—49	発明の数 1
C 12 K 1/00 //		36(2) B 02	7235—49	審査請求 有
C 07 C 31/20		13(7) A 31	6917—4A	
C 12 B 1/00		25(5) N 3	7188—37	
		16 B 422	6771—43	

(全 5 頁)

④ポリエステル化合物の分解法

①特 願 昭50—159531

②出 願 昭50(1975)12月26日

⑦発 明 者 常盤豊

千葉市稲毛東5丁目8番1号工業技術院微生物工業技術研究所内

同

鈴木智雄

同

⑧出 願 人

⑨指定代理人

千葉市稲毛東5丁目8番1号工業技術院微生物工業技術研究所内 高原義昌

千葉市稲毛東5丁目8番1号工業技術院微生物工業技術研究所内 工業技術院長

工業技術院微生物工業技術研究所長

PTO 2001-2138

S.T.I.C. Translations Branch

明 細 書

1. 発明の名称

ポリエステル化合物の分解法

2. 特許請求の範囲

ポリエステル化合物に、温度5～85℃、pH3～11の条件下でリパーゼ、リパーゼ含有物もしくはリパーゼ生体菌を接触せしめることを特徴とするポリエステル化合物の分解法。

3. 発明の詳細な説明

本発明はポリエステル化合物をリパーゼによつて生化学的に分解する方法に関するものである。

更に詳細には、本発明はプラスチック廃棄物の大きな部分を占めるポリエステル系樹脂をリパーゼによつて生化学的に分解し、ポリエステル系樹脂廃棄物を無公害化する方法に関するものである。

最近、プラスチック廃棄物の増大にともなつて公害防止のため、その処理技術の開発が急がれている。プラスチック廃棄物には各種の合成樹脂があり、その処理法もさまざまであるが、最も簡単な方法はすべし焼却してしまうことである。しか

し安易に焼却してしまつたのでは、煙や灰による二次公害を起し、問題となりかねないのである。

プラスチック廃棄物が、紙と同じように土壌中や処理場で生化学的に分解されるものであれば、プラスチック廃棄物そのものを土壌中に埋めておいて分解されるので問題はないが、土壌中では全く分解されることなく、そのまま残つてしまう。

そこで、プラスチック廃棄物でも簡単な生化学的処理によつて分解できる方法開発が急がれているのである。

本発明者らは、先に、脂肪族ポリエステル化合物を単一の炭素源として生育できるペニシリウム属に属する系統菌の一株を土壌中より分離し、その菌体あるいはその菌株の培養物による脂肪族ポリエステル化合物の分解法を確立した。

更に、本発明者らは、ポリエステルを分解する本質についての説明を行うために、広範囲にわたつて多くの微生物、多くの特許について検索を続けたところ、意外にもリパーゼそのものにポリエステル化合物の分解能があることを知つたのである。

本発明は、この新たな知見によつて完成されたもので、ポリエステル化合物に、温度5～85℃、pH3～11の条件下でリパーゼ、リパーゼ含有物もしくはリパーゼ生産菌を接触せしめることによつてポリエステル化合物を分解する方法である。

本発明の大きな特色は、リパーゼ、リパーゼ含有物、リパーゼ生産菌等あらゆるリパーゼ源がポリエステル化合物を分解する点にある。ここでいうリパーゼは、酵素分類上のリパーゼのほか、エステル結合を加水分解するエステラーゼ、ホスホリパーゼ、リゾホスホリパーゼ等すべてのリパーゼを包含するものである。

これらリパーゼの生産菌としては、細菌ではシユードモナス・メフィテイカ・リポリテイカ後工研研第520号(FERM-P-520)、アクロモバクター・イオファガス、酵母ではカンジダ・パラリポリテイカ、カンジダ・シリンドラツセ、糸状菌ではムコール属、アスペルギルス属、リゾプス属のリパーゼ生産菌、植物ではひまわり、動物では、豚臓、豚肝臓、蛇毒などのリパーゼが挙

げられるが、シユードモナス・メフィテイカ・リポリテイカの生産するリパーゼを除けばすべて市販されている。また、これら起源のリパーゼに限られるものではない。

本発明におけるポリエステル化合物の分解にはリパーゼ、粗リパーゼ、リパーゼ含有物、リパーゼを含有するリパーゼ生産菌培養物は勿論、リパーゼ生産菌、リパーゼ生産性菌、リパーゼ活性の高い活性汚泥、リパーゼ生産性の高い微生物含有土壌などが有効に使用される。

リパーゼ生産菌等を使用する場合は、さらにリパーゼ活性を高めるために栄養源の補給が有効である。栄養源としては、例えば無機塩類、グルコースやデンプン等の炭素源およびポリペプトンやコーンステイアプリカー等の有機窒素源の他に、し尿、家畜の糞尿、農産廃棄物、食品産業廃水等の高BOD廃液や都市ゴミなどが挙げられる。

リパーゼによつてポリエステル化合物を分解させるためには、ポリエステル化合物はできるだけ細かく分散させ、リパーゼとの接触界面を大きく

リエステル化合物、④炭素以外のヘテロ原子を含むポリエステル、⑤それぞれのポリエステル化合物に第三成分を加えた共重合ポリエステル化合物、⑥ポリ炭酸エステル化合物および⑦、⑧～⑩のうちの一種以上のポリエステル化合物と他のポリマーあるいは添加物あるいはその両者とをブレンドしたものなどがある。

次に、実施例により本発明の詳細な説明をするが、実施例におけるポリエステル化合物の分解の検査や定量は各々次の方法を用いた。

(ポリエステル化合物の分解の検査)

従来より行なわれているクリヤーゾーン法によつた。すなわち、種々のポリエステル化合物0.5gを界面活性剤ブライサーフA210Gを用い0.02Mのリン酸緩衝液中で乳白色に懸濁させた後、1.5mlの精製寒天を加え、滅菌してペトリ皿に一定の厚さになるように流した。そして固化した寒天上にペニシリンカプを置き、その中に種々の酵素液0.2mlを加え、30℃で1～2日間保温し、透明域形成の有無により分解程度を調べる方法で

することが望しいが、その分散状態としては、細い繊維状、うすい膜状や粉末状などがある。反応系が液体ならば、ポリエステル化合物を有機溶媒にとかした後水中に懸濁させたり、あるいはポリエステル化合物を微点以上に熱し界面活性剤(例えばブライサーフA210G)を用い懸濁状態に分散させることもできる。また非常に分散しにくいものは小さな担体(例えば、陶砂やガラスビーズなど)にコーティングすることもできる。

リパーゼによりポリエステル化合物を分解する場合の温度は5～85℃、好ましくは20～60℃、pHは3～11、好ましくは5～8に保持することが必要である。分解反応は溶液系または適当な水分があれば固体系でも進行する。反応系への通気は、リパーゼ酵素のみの場合には必要ないが、生きた微生物や細胞を含む場合は行つた方が反応は促進される。

ある。

(定法)

① 水溶性の全有機炭素量：培養液を穴の大きさは0.22 μのミリポアフィルターで濾過した後、東芝・ベックマン915型全有機炭素量分析機を用いて測定した。

② エチレングリコール：ハナハン(Hanahan)の方法により測定した。

実施例1

シユウドモナス・メフィタイカ・リポリタイカ FERM-P 520の生産リパーゼ(粗酵素標品)溶液(5 mg/ml)、アクロモバクター・イオフアース近縁菌の生産リパーゼ(名産産製、粗酵素標品(市販品))溶液(5 mg/ml)、カンジダ・パラリポリタイカの生産リパーゼ(名産産製、粗酵素標品(市販品))溶液(5 mg/ml)、カンジダ・シリンドラツセの生産リパーゼ(名産産製、粗酵素標品(市販品))溶液(1 mg/ml)、ムコール属菌の生産リパーゼ(天野製製、粗酵素標品(市販品))溶液(5 mg/ml)、アスペル

特開昭52-82774(3)

ギルス属菌の生産リパーゼ(天野製製、粗酵素

標品(市販品))溶液(5 mg/ml)、リゾーブス

属菌の生産リパーゼ(長瀬産製、粗酵素標品

(市販品))溶液(5 mg/ml)、リゾーブス・デ

レマーの生産リパーゼ(生化学工業製、超遠心的

に単一の標品(市販品))溶液(1 mg/ml)、リ

ゾーブス・アリスの生産リパーゼ(ペーリンガー

マンハイム山之内製、部分精製標品(市販品))

溶液(1 mg/ml)、ひまわりリパーゼ(Oryの

方法により調整、粗酵素標品)溶液、豚肝臓リ

パーゼ(東京化成工業製、粗酵素標品(市販品))

溶液(5 mg/ml)、豚肝臓エステラーゼ(ペーリ

ンガーマンハイム山之内製、部分精製標品(市販

品))溶液(1 mg/ml)を用意した。

一方、ポリエチレンアジベート、ポリエチレンフタレートおよびポリエチレンテレフタレートの各0.5gを界面活性剤ブライサーF A210Gを用い0.02 Mのリン酸緩衝液中で乳白色に懸濁させた後、1.5gの精製寒天を加え、滅菌してベトリ皿に一定の厚さになるように流した。そして固化

した寒天上にペニシリンカップを置き、その中に前記の各酵素液0.2 mlを加え、30℃で1~2日間保温し、透明域形成の有無により分解度を調べた。

その結果は次の第1表に示される。

第1表

酵 素 源	ポリエステル化合物の分解能			
	ポリエチレン アジベート pH5.6	ポリエチレン フタレート pH7.0	ポリエチレン テレフタレート pH7.0	
シウドモナス・メフィ タイカ・リポリタイカ FERM-P 520 リパーゼ	++	+	+	N.T
アクロモバクター・イ オフアース リパーゼ	++	++	++	N.T
カンジダ・パラリポリ タイカ リパーゼ	+	+	±	N.T
カンジダ・シリンドラ ツセ リパーゼ	+	+	+	+
ムコール属 リパーゼ	+	+	+	+
アスペルギルス属 リパーゼ	±	-	++	-
リゾーブス属 リパーゼ	+	++	+	-
リゾーブス・デレマーリパーゼ	+	++	++	++
リゾーブス・アリスリパーゼ	+	++	++	++
ひまわり リパーゼ	-	-	+	+
豚肝臓 リパーゼ	±	±	±	±
豚肝臓 エステラーゼ	-	-	++	±

- : 分解認められず, + : 分解認められる,

++ : 強い分解認められる, N.T. : テストせず.

第1表から、リパーゼがポリエステル化合物を分解することは明らかである。

実施例2

第2表の酵素標品を用いて、熱可塑性樹脂のポリカプロラク톤の分解を行った。

反応組成は、粉末状のポリカプロラクトン1g、0.2Mリン酸緩衝液10ml、および各々の酵素標品0.5~3.2mgで全量を35mlとした。30℃で16時間振とう反応させ、生成する水溶性全有機炭素量により分解性を調べた。

その結果は第2表に示すごとくであるが、リゾーブス・デレマーのリパーゼとリゾーブス・アリススのリパーゼに強いポリカプロラクトン分解能が認められた。

振とう反応を行った。対照は、熱処理したリパーゼ溶液を用いた。

経時的に反応液の濁度を測定した結果は添付した図1図に示すごとく反応初期に急激な減少が認められ、3時間後にはほとんど透明（濁度は1/300以下に減少）になった。

実施例4

ポリカプロラクトン（ユニオンカーバイド社製 PCL-500）を縦20cm、横2cm、厚さ2mmの試験片に成形し、リパーゼ源としてリパーゼ活性の高い畑を選び、これに試験片6枚を5~10cmの深さに埋め、その重量減少を測定した。対照としては試験片をアルミホイルで包み土壌中に埋めたもの（対照①）、大気中にさらしたもの（対照②）、デシケータに入れたもの（対照③）及びリパーゼ活性の低い畑（対照④）を用いた。

その結果は第3表に示されるが、試験片はいずれの対照に比べても著しく分解されていることがわかった。

特開昭52-82774(4)

第2表

酵 素 源	酵素量	反応pH	生成した全有機炭素量
アスペルギルス・ニガー リパーゼ	1.0 mg	5.6	31 ppm
ジオトリカム・カンジタム リパーゼ	1.0 mg	5.6	8 "
リゾーブス・デレマー リパーゼ	1.0 mg	5.6	177 "
リゾーブス・アリスス リパーゼ	0.5 mg	7.0	95 "
カンジタ・シリンドラツセ リパーゼ	1.0 mg	7.0	22 "
小麦胚芽 リパーゼ	3.2 mg	5.6	5 "
豚膵臓 リパーゼ	1.0 mg	7.0	11 "

実施例3

リゾーブス・デレマーの生産するリパーゼ（生化学工業製：市販品）によつてポリエチレンアジベートを分解した。

反応組成は、1%ポリエチレンアジベート懸濁液7.5ml、0.2Mリン酸緩衝液2.0mlおよびリパーゼ溶液（1mg/ml）0.5mlから成り、30℃で

第3表

	重 量 減 少			
	1ヶ月目	2ヶ月目	3ヶ月目	5ヶ月目
試験片(平均)	3023mg	8734mg	14827mg	32628mg
対象①	-14mg	98mg	248mg	342mg
対象②	319mg	744mg	1113mg	1327mg
対象③	327mg	310mg	387mg	418mg
対象④	325mg	502mg	764mg	983mg

実施例5

リパーゼ活性を高めた活性汚泥を用意し、これを投じてMLSS（混合液の浮遊物質）を4000~6000ppmに維持したばつ気槽にステンレス製の網籠に固定したポリカプロラクトン（ユニオンカーバイド社製：PCL-500）の試験片（たて20cm×よこ2cm×厚さ2mm）6枚を入れ常温でその重量減少を測定した。

その結果は第4表に示されるが、リパーゼ活性を高めた活性汚泥では、通常の活性汚泥に比べて試験片が著しく分解されていることがわかった。

第 4 表

	重量減少 (mg)		
	1ヶ月後	2ヶ月後	3ヶ月後
リパーゼ活性を高めた活性汚泥	578.2	1393.4	2047.5
通常の活性汚泥	134.5	387.0	412.1

実施例 6

ポリカプロラクトンとポリ酢酸ビニルを等量づつブレンドしたフィルムを作り、リパーゼ源としてリパーゼ活性の高い畑を過び、これに埋め、フィルムの重量減少を測定した。

対照には、アルミホイルで包み土壌中に埋めたものである。その結果、対象は3ヶ月間の実験では全く重量減少が認められなかつたのに比して、試験フィルムは1ヶ月目で重量が6%減少し、3ヶ月目にはフィルムは崩壊し、重量の測定は困難であつた。

このように、リパーゼはポリエステル化合物と他のポリマーをブレンドしたプラスチックにも分

特開昭52-82774(5)

解性を有することが明らかである。

4. 図面の簡単な説明

図面はリゾプス・デレマーの生産するリパーゼによるポリエチレンアジペートの分解を示す図である。

指定代理人 昭和52年 微生物工学研究所長

御 園 光 仍

図 面

ポリエチレンアジペートの分解

